

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	① 乙 第	号	氏 名	猪 股 研 太
主 論 文 題 名				
A Pre-Clinical Large Animal Model of Sustained Liver Injury and Regeneration Stimulus (肝再生医療研究のためのブタ慢性肝障害モデルの作成)				
(内 容 の 要 旨)				
<p>iPS細胞技術を基盤とした肝再生医療研究の進歩により、iPS細胞由来の肝細胞や肝原基など肝臓組織の一部が再現されつつある。今後、ヒトへの臨床試験の前段階として、移植後の生態内での動態・機能・安全性を評価するための大動物疾患モデルが必要である。これまで、大動物（ブタ）の肝障害モデルとしては、肝虚血、肝切除、薬剤性など様々なモデルが報告されてきたが、いずれも急性に重度の肝障害を呈するため、移植された組織の中・長期的な評価は困難であった。また、これらのモデルでは急激な肝障害のため再生シグナルが亢進した肝臓の優位性により、移植された細胞の淘汰も危惧される。このため、肝再生技術の実現性・有用性を適切に評価可能な、新しい肝障害モデルが必要と考えられる。ゲッチングミニブタを用い、肝細胞増殖抑制作用を有するアルカロイドであるレトロルシンを投与した後に肝切除を加えることで肝障害モデルを作成した。まず、カテーテルを用い、レトロルシン10, 30, 50, 100mg/kgをブタ2, 9, 12, 1匹にそれぞれ腹腔内投与した。2週間後にそれぞれ同量を再投与し、さらに4週間後に60%肝切除を行った。肝切除からさらに3, 10, 17, 28日後にsacrificeを行い、採取した肝臓について重量測定及び、HE染色・免疫染色による評価を行った。また、初回のレトロルシン投与からsacrificeまでの期間に、臨床症状の観察と定期的な採血による肝胆道系酵素・蛋白合成能等の評価を行った。また、切除肝内及び血中のレトロルシン濃度をLC-MS/MSを用いて測定した。コントロール群としてブタ11匹に対して生理食塩水を投与し、同様に肝切除・sacrificeを行い評価した。レトロルシン投与群で活動度や摂食量は低い傾向にあった。レトロルシン投与群では肝切除10, 17日後の肝重量比率がコントロール群の80%程度に抑制されていた。レトロルシン投与群では、血中アルブミン濃度低下やプロトロンビン時間延長などを認め、肝障害が示唆された。切除肝組織のHE染色ではレトロルシン投与群において核の大小不同や脂肪変性が認められた。また、免疫染色ではレトロルシン投与群の肝組織でCyclin D1が高発現し、Western blottingでも同様の傾向を示した。PCNA・Ki67の発現は肝切除後に有意差を認めなかった。TUNEL染色ではレトロルシン投与群で発現が遅延していた。レトロルシン30mg/kgを投与した9匹, 50mg/kgを投与した12匹のうち、それぞれ3匹、2匹が薬剤性肝障害のため肝切除以前に死亡した。大動物を用いた初めてのレトロルシン投与と60%肝切除を組み合わせた肝再生抑制効果を示す肝障害モデルを作成した。今後、iPS細胞等を用いた再生細胞や再生肝臓グラフトの前臨床研究の基盤技術として非常に有用なモデルであると考ええる。</p>				